

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 表 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-523650

(P2001-523650A)

(43) 公表日 平成13年11月27日 (2001.11.27)

(51) Int.Cl.

識別記号

F I

フィード* (参考)

A 6 1 K 49/00

A 6 1 K 49/00

C 4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 96 頁)

(21) 出願番号 特願2000-520822(P2000-520822)
 (86) (22) 出願日 平成10年11月17日 (1998.11.17)
 (85) 翻訳文提出日 平成12年5月17日 (2000.5.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US98/24570
 (87) 国際公開番号 WO99/25389
 (87) 国際公開日 平成11年5月27日 (1999.5.27)
 (31) 優先権主張番号 08/971, 855
 (32) 優先日 平成9年11月17日 (1997.11.17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 09/134, 072
 (32) 優先日 平成10年8月13日 (1998.8.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 リサーチ コーポレイション テクノロジ
ーズ、インコーポレイテッド
Research Corporation
Technologies, Inc.
アメリカ合衆国 アリゾナ 85711-3335,
トゥーソン、スイート 600, ノース ウ
イルモット ロード 101
(72) 発明者 トーマス・ミード
アメリカ合衆国91001カリフォルニア州ア
ルタデナ、ニュー・ヨーク・ドライブ1656
番
(74) 代理人 弁理士 青山 葆 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生理学的薬剤の検出のための磁気共鳴造影剤

(57) 【要約】

本発明は、新規な磁気共鳴造影コントラスト剤および生
理学的シグナルまたは物質を検出する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 a) G d (III) イオンの少なくとも5つの配位部位において配位原子を有するようにキレート化剤に結合したG d (III) イオン；

b) 残りの配位部位において迅速な水の交換を妨げる該キレート化剤に共有結合したブロッキング基を含むMR I 剤であって；

該ブロッキング基が、残りの配位部位にける水の交換が増大するように、標的物質と相互作用できることを特徴とする該MR I 剤。

【請求項2】 該G d (III) イオンが、該G d (III) イオンの少なくとも6つの配位部位において配位原子を有する請求項1記載のMR I 剤。

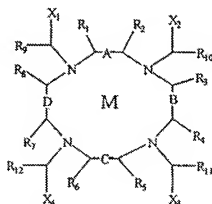
【請求項3】 該G d (III) イオンが、該G d (III) イオンの少なくとも7つの配位部位において配位原子を有する請求項1記載のMR I 剤。

【請求項4】 該キレート化剤が、DOTAまたは置換DOTAである請求項1記載のMR I 剤。

【請求項5】 該キレート化剤が、DTPAまたは置換DTPAである請求項1記載のMR I 剤。

【請求項6】 式：

【化1】



〔式中、Mは、G d (III)、F e (III)、M n (II)、Y t (III)、C r (III)およびD y (III)よりなる群から選択される常磁性金属イオン；

A、B、CおよびDは、単結合または二重結合のいずれかであり；

X₁、X₂、X₃およびX₄は、-OH、-COO⁻、-CH₂OH、-CH₂COO⁻また

はブロッキング基；

$R_1 \sim R_{12}$ は水素、アルキル、アリール、リン基またはブロッキング基であり；
ここに、少なくとも一つの $X_1 \sim X_4$ および $R_1 \sim R_{12}$ はブロッキング基である]
を有するMRI剤。

【請求項7】 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} または R_{12} のうちの少なくとも1つがアルキル基である請求項6記載のMRI剤。

【請求項8】 X_1 がブロッキング基であって、 R_9 がアルキル基である請求項6記載のMRI剤。

【請求項9】 該ブロッキング基がペプチドである請求項6記載のMRI剤。

【請求項10】 A、B、CおよびDが単結合であり、 $R_1 \sim R_{12}$ が水素であって、各 R_{10} が $-CH_2O-$ である請求項6記載のMRI剤。

【請求項11】 a) 第一錯体に結合した少なくとも第一常磁性金属イオン、ここに該第一錯体は、

i) 第一キレート化剤と；

ii) 該第一金属イオンの少なくとも第一配位部位において結合し、該第一金属イオンの少なくとも該第一配位部位における水の交換を増大させるように標的物質と相互作用できる該第一キレート化剤に共有結合したブロッキング基を含む；および

b) 第二錯体に結合した少なくとも第二常磁性金属イオン、ここに該第二錯体は、

i) 第二キレート化剤と；

ii) 該第二金属イオンの少なくとも第一配位部位において結合し、該第二金属イオンの少なくとも該第一配位部位における水の交換を増大させるように標的物質と相互作用できる該第二キレート化剤に共有結合したブロッキング基を含む；

を含むMRI剤。

【請求項12】 該第一錯体および該第二錯体がリンカーを介して結合する請求項11記載のMRI剤。

【請求項13】 該リンカーがポリマーである請求項11記載のMRI剤。

【請求項14】 a) 第一常磁性金属イオンを含む第一キレート化剤；

b) 第二常磁性金属イオンを含む第二キレート化剤；

c) 少なくとも一つの該第一または該第二キレート化剤に共有結合するブロッキング基、ここに該ブロッキング基は、該第一および該第二金属イオンの各々の少なくとも第一配位原子を供し、少なくとも一つの該金属イオンの少なくとも第一配位部位における水の交換を増大させるように、標的物質と相互作用できる；を含むことを特徴とする少なくとも第一MRIデュプレックス基を含むMRI剤。

【請求項15】 さらに、少なくとも第二MRIデュプレックス基を含む請求項14記載のMRI剤組成物。

【請求項16】 該第一および該第二MRIデュプレックスがリンカーを介して結合する請求項15記載のMRI剤組成物。

【請求項17】 該リンカーがポリマーである請求項16記載のMRI剤組成物。

【請求項18】 錯体に結合した常磁性金属イオンを含む少なくとも一つの共有結合したMRIコントラスト剤を含むポリマーを含む組成物であって、

a) キレート化剤；および

b) 該金属イオンの少なくとも第一配位部位に結合し、少なくとも該第一配位部位の水の交換を増大させるように標的物質と相互作用できる該キレート化剤に共有結合したブロッキング基を含むことを特徴とする該組成物。

【請求項19】 該ポリマーが複数の該MRIコントラスト剤を含む請求項18記載の組成物。

【請求項20】 該錯体が、第二常磁性金属イオンを含む第二キレート化剤をさらに含み、該ブロッキング基が各々の該常磁性金属イオンにつき少なくとも第一配位原子を供する請求項18記載の組成物。

【請求項21】 該ポリマーが、ポリアミノ酸である請求項18記載の組成物。

【請求項22】 該ポリアミノ酸がポリリシンである請求項21記載の組成

物。

【請求項23】 該ポリマーが、40kD未満の分子量を有する請求項18記載の組成物。

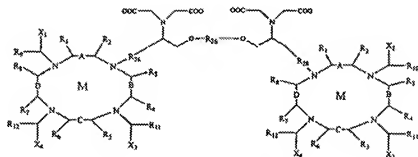
【請求項24】 該ポリマーが、25kD未満の分子量を有する請求項18記載の組成物。

【請求項25】 該ポリマーが、15kD未満の分子量を有する請求項18記載の組成物。

【請求項26】 該ポリマーが、10kD未満の分子量を有する請求項18記載の組成物。

【請求項27】 式：

【化2】



〔式中、Mは、Cd(II)、Fe(II)、Mn(II)、Yt(III)、Cr(III)およびDy(III)よりなる群から選択される常磁性金属イオンであり；

A、B、CおよびDは単結合または二重結合のいずれかであり；

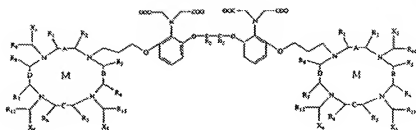
X₁、X₂、X₃およびX₄は-OH、-COO⁻、-CH₂OHまたは-CH₂COO⁻であり；

R₁~R₂₆は水素、アルキル、アリールまたはリン基であって；R₂₇はリンカー基である〕

を有する請求項18記載のMRI剤。

【請求項28】 式：

【化3】



〔式中、Mは、Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Yt(III)、Cr(III)およびDy(III)よりなる群から選択される常磁性金属イオンであり；

A、B、CおよびDは単結合または二重結合のいずれかであり；

X₁、X₂、X₃およびX₄は-OH、-COO⁻、-CH₂OHまたは-CH₂COO⁻であって；

R₁~R₁₀は水素、アルキル、アリールまたはリン基である〕

を有する請求項18記載のMRI剤。

【請求項29】 請求項1記載のMRI剤を細胞、組織または患者に投与し、該細胞、組織または患者の磁気共鳴造影を行うことを特徴とする細胞、組織または患者の磁気共鳴造影方法。

【請求項30】 請求項6記載のMRI剤を細胞、組織または患者に投与し、該細胞、組織または患者の磁気共鳴造影を行うことを特徴とする細胞、組織または患者の磁気共鳴造影方法。

【請求項31】 請求項11記載のMRI剤を細胞、組織または患者に投与し、該細胞、組織または患者の磁気共鳴造影を行うことを特徴とする細胞、組織または患者の磁気共鳴造影方法。

【請求項32】 請求項14記載のMRI剤を細胞、組織または患者に投与し、該細胞、組織または患者の磁気共鳴造影を行うことを特徴とする細胞、組織または患者の磁気共鳴造影方法。

【請求項33】 請求項18記載のMRI剤を細胞、組織または患者に投与し、該細胞、組織または患者の磁気共鳴造影を行うことを特徴とする細胞、組織または患者の磁気共鳴造影方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

この出願は、1995年6月2日付けで出願したU.S.S.N.08/460,511；1995年6月7日付けの08/486,968、現在、米国特許第5,707,605号；1997年10月27日付けで出願した60/063,398；および1997年11月17日付けで出願した08/971,855の継続出願である。

【0002】

(発明の分野)

本発明は、新規な磁気共鳴造影コントラスト剤および生理学的シグナルまたは物質を検出する方法に関する。

【0003】

(発明の背景)

磁気共鳴映像法(MRI)は、高磁場および高周波シグナルを用いて画像を生成する診断的手法および研究手法である。生物組織における大部分の豊富な分子種は、水である。全画像試験におけるシグナルに増大を最後に与えるのは、水プロトン核の量子力学的「スピン」である。MRIにおいて、画像化すべき試料は、強い静止磁場(1-12 Tesla)に置かれ、スピンは、高周波(RF)放射のパルスで励起されて、試料において正味の磁化を生じる。次いで、種々の磁場勾配および他のRFパルスは、スピンの作用して、空間的情報を記録されたシグナルに暗号化する。MRIは、比較的短時間に三次元の構造情報を生成できる。

【0004】

画像

MR画像は、典型的には、灰色スケールで示され、測定強度(I)が最低では黒で最高では白である。この測定強度 $I = C \cdot M$ 、ここに、Cはスピンの濃度(この場合には水濃度)で、Mは測定時点に存在する磁化の測定量である。水濃度(C)の変動はMR画像におけるコントラストに増大を与えることができるが、MRIにおける画像強度変動の源である局所的環境に対してMの変化速度に強く依存する。2つの独特な緩和時間、 T_1 および T_2 は、磁化が正確に測定できる速度を決

定する。 T_1 は、RFパルスによって混乱させられた後に平衡にまで減衰するスピンのつき一定の指数関数的な時間である。シグナル対ノイズ(SNR)を増加させるために、典型的なMR画像スキャン(RFおよび勾配パルス配列ならびにデータ獲得)は、事前決定された数の回数につき一定割合にて繰り返して、データを平均した。いずれかの所与のスキャンにつき記録されたシグナルの大きさは、先のスキャンから平衡にまで減衰したスピン数に比例する。かくして、急速に減衰しているスピン(短い T_1 値)を持つ領域は、連続するスキャン間のすべてのそれらのシグナルの大きさを回復するであろう。

【0005】

最終画像における測定強度は、スピン密度(すなわち、含水量)を正確に反映するであろう。定常状態に達するまで、スキャンの間の時間に比較して長い T_1 値を持つ領域は、次第にシグナルを失い、最終画像における暗い領域として現れるであろう。 T_2 (スピン-スピン緩和時間)の変化の結果、シグナルライン幅(短い T_2 値)を変化させ、より大きなライン幅を得る。極度の状態において、ライン幅は、シグナルが大きいのでバックグラウンドノイズから区別ができない。臨床的画像において、水緩和特性は、組織間で変更され、組織タイプの識別を可能とするコントラストを提供できる。さらに、MRI試験は、短い T_1 値および/または長い T_2 値を持つ試料の領域が、いわゆる T_1 -重み付けしたおよび T_2 -重み付けした画像プロトコルを優先的に増強するように設定できる。

【0006】

MRIコントラスト剤(MRI contrast agent)

常磁性コントラスト剤の臨床的有效性を示す一連の論文が急速に増えている(現在、8つが臨床試験中または使用中である)。磁氣的刺激であり、組織学的に別個であり得る、領域/組織を区別する能力は、これらの薬剤の調製についての主な起動力である[1、2]。MRI剤の設計において、厳しい注意は、コントラスト増強を能力として、生理学的成果を最後にもたすであろう種々の特性に与えられなければならない[3]。考慮されなければならない2つの基礎的特性は、生体適合性およびプロトン緩和増強である。生体適合性は、毒性、安定性(熱力学および動力学)、薬物動態学および生体分布を含めたいくつかの因子によ

って影響される。プロトン緩和増強(または緩和度(relaxivity))は、金属の選定および回転性相関時間によって主に決定される。

【0007】

設計工程中に考えられるべき第一の特徴は、金属原子の選択であり、それは、錯体の測定された緩和度を左右するであろう。常磁性金属イオンは、非対称の電子の結果として、強力な緩和増強剤として働く。それらは、近くの(r^6 依存)スピンの T_1 および T_2 緩和時間を減少させる。いくつかの常磁性イオンは、実質的ラインボーデニング(linebroadening)(例えば、ガドリニウム(III)、(Gd^{3+}))を生じることなくして、 T_1 を減少させ、一方、他方は、劇的なラインボーデニング(例えば、超常磁性酸化鉄)を誘導する。 T_1 緩和の機構は、一般的に、常磁性体(非対電子を有する金属原子)の非対電子と、(金属原子と結合する)金属内部配位範囲において水分子と速く交換するバルク水分子(金属原子に結合していない水分子)との間の空間を通した双極子-双極子相互作用である。

【0008】

例えば、試験において連続するスキャン間の時間が短い(すなわち、 T_1 重み付けした画像)ならば、(水分子の近くの) Gd^{3+} イオンと会合した領域は、MR画像において明るく現れ、通常の水溶液は、暗い背景として現れる。超常磁性粒子によって引き起こされた局在化した T_2 短縮は、これらの粒子の大きな磁力モーメントに関連した局所磁場不均一性のためであると考えられる。スピン-エコーパルス配列試験においてエコー時間(TE)が長い(例えば、 T_2 -重み付けした画像)ならば、超常磁性酸化鉄粒子と関連した領域は、MR画像において暗く現れ、通常の水溶液は、高い強度の背景として現れる。ランタニド原子 Gd^{3+} は、非常に高い磁気モーメント($\mu = 6.3 BM$)および対称性の電子基底状態(S^0)を有するために、MRIコントラスト剤につきはるかに頻繁に選択される金属原子である。また、高スピンMn(II)およびFe(III)のごとき遷移金属は、高い磁気モーメントのために候補物である。

【0009】

一旦適当な金属が選択されたならば、適当な配位子またはキレートが錯体を非毒性とるように見出されなければならない。キレート化剤なる用語は、「カニ

のツメ」を意味するギリシャ語の単語cheleから由来し、その多くの「腕」を用いて金属原子をつかみ保持する、物質についての適当な記載である(以下のDTPA参照)。いくつかの因子は、エンタルピーおよびエントロピー効果(例えば、配位結合基の数、荷電および塩基度、配位子場ならびに立体配置効果)を含めたキレート錯体の安定性に影響する。配位子の種々の分子設計特徴は、生理学的結果と直接的に関連付けることができる。例えば、所与の配位子構造上の単一のメチル基の存在は、クリアランス速度に対して著しい効果を有することができる。臭素基の付加は、所与の錯体を純粋な細胞外の役割から、肝細胞において集められる有効な薬剤へできる。

【0010】

ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)は、キレート化し、かくしてランタニドイオンを無毒化するのに働く。 $Gd(DTPA)^{3-}$ についての安定性定数は、非常に高く($\log K = 22.4$)、生成定数として通常知られている($\log K$ が高ければ高いほど、錯体は安定化する)。この熱力学的パラメーターは、非結合状態にある Gd^{3+} イオンの分率が全く小さく、金属の損失が生じるところの割合(動力学的安定性)(k_f/k_r)と混同すべきでないことを示す。水溶性 $Gd(DTPA)^{3-}$

キレートは、安定で、非毒性であって、実験的および臨床的画像研究において最も広範囲に用いられるコントラスト増強剤の一つである。1988年6月に成人患者において臨床の使用が承認された。それは、灌流優位な工程による組織中に蓄積する細胞外薬剤である。

【0011】

現在まで、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N'',N'''-四酢酸(DOTA)およびその誘導体を含めた多数のキレート化剤が用いられてきた。米国特許第5,155,215号、第5,087,440号、第5,219,553号、第5,188,816号、第4,885,363号、第5,358,704号、第5,262,532号およびMeyerら、Invest. Radiol. 25:S53(1990)参照。

【0012】

$Gd(DTPA)$ を用いる画像増強改善は、空間占有障害によって引き起こされ

た脳血管閥閉崩壊の視覚化および異常な脈管質の検出を含めた多数の適用において引証されている(Rungeら、Magn. Reson. Imag. 3: 85 (1991); Russellら、AJR 152: 813 (1989); Meyerら、Invest. Radiol. 25: S53 (1990))。最近、局所の大脳血行動態を定義することによって、ヒトの視覚皮質の機能的マッピングに適用された(Belliveauら、(1991) 254: 719)。

【0013】

Gdコントラスト剤において用いられたもう一つのキレート化剤は、大環状配位子1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-N,N',N'',N'''-四酢酸(DOTA)である。Gd-DOTA錯体は、動物およびヒトを含む実験室試験において徹底的に試験された。当該錯体は、立体配置的に剛直であり、非常に高い生成定数($\log K = 28.5$)を有し、生理学的pHにて非常に遅い解離速度を有する。最近、GdDOTA錯体がフランスにおいて成人および小児における使用のためにMRIコントラスト剤として承認され、4500名を超える患者に投与された。

上記のごとく、これらのMRIコントラスト剤は、様々な使用を有する。しかしながら、生物学的または他のタイプの試料内の生理学的または代謝過程について報告するMRIコントラスト剤はない。従って、本発明の目的は、動物の組織または細胞内の生理的薬剤の視覚化および検出を可能とするMRIコントラストまたは増強剤を提供することにある。

【0014】

(発明の概要)

上記の目的により、本発明は、錯体に結合した常磁性金属イオンを含むMRI剤を提供する。該錯体は、キレート化剤および該金属イオンの少なくとも第一配位部位においてブロッキング基(blocking moiety)を含む。該ブロッキング基は、キレート化剤に共有結合し、金属イオン錯体中の少なくとも該第一配位部位における水の交換を変更するように標的物質と相互作用できる。

【0015】

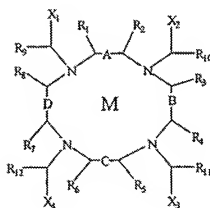
一の態様において、本発明は、a) Gd(III)イオンが少なくとも5つの配位部位を有するようにキレート化剤と結合したGd(III)イオンと、b) 残りの配位部

位における水の迅速な交換を妨げるキレート化剤に共有結合したブロッキング基を含むMRI剤を提供する。該ブロッキング基は、残りの配位部位における水の交換が増大するように標的物質と相互作用できる。

一の態様において、本発明は、式：

【0016】

【化4】



【0017】

〔式中、Mは、Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Yr(III)、Cr(III)およびDy(III)よりなる群から選択される常磁性金属イオン；A、B、CおよびDは、単結合または二重結合のいずれかであり；X₁、X₂、X₃およびX₄は、-OH、-COO⁻、-CH₂OH、-CH₂COO⁻またはブロッキング基；R₁~R₁₂は水素、アルキル、アリール、リン基またはブロッキング基；ここに、少なくとも一つのX₁~X₄およびR₁~R₁₂はブロッキング基である〕

を有するMRI剤を提供する。

【0018】

さらなる態様において、本発明は、第一錯体に結合した第一常磁性金属イオンおよび少なくとも第二錯体に結合した第二常磁性金属イオンを含むMRIコントラスト剤を提供する。

該第一および第二錯体は、各々、共有結合したブロッキング基を持つキレート化剤を含む。該錯体は、リンカー、例えば、ポリマーを介して結合できる。

【0019】

さらなる態様において、該MRI剤は、a)第一常磁性金属イオンを含む第一キレート化剤、b)第二常磁性金属イオンを含む第二キレート化剤、およびc)少なくとも一つの第一または第二キレート化剤と共有結合したブロッキング基を含む。該ブロッキング基は、第一および第二金属イオンの各々の少なくとも第一配位原子を提供し、配位部位バリアーとして機能する。上記のごとく、該ブロッキング基は、少なくとも一つの該金属イオンの少なくとも第一配位部位における水の交換を増大する標的物質と相互作用できる。

また、本発明は、細胞、組織、実験動物または患者に本発明のMRI剤を投与すること特徴し、該細胞、組織、実験動物または患者の磁気共鳴造影を行う細胞、組織、実験動物または患者の磁気共鳴造影方法を提供する。

【0020】

(発明の詳細な説明)

本発明は、生理学的薬剤または標的物質を検出できる磁気共鳴造影コントラスト剤を提供する。本発明のMRI剤は、生理学的標的物質の不存在下でコントラスト増強剤として、比較的不活性であり弱い緩和度を有し、生理学的標的物質の存在下で活性化され、かくしてMR画像を変更する。

【0021】

単純化して見れば、それにより該コントラスト剤に「スイッチが入れられる(turned on)」(すなわち、緩和度を増大させる)この「トリガー」機構は、本発明のMRIコントラスト剤に含まれた常磁性金属イオンの1以上の配位部位における水分子の交換速度に影響する動的平衡に基づいている。今度は、水分子の交換速度は、周囲環境における標的物質の存在または不存在によって決定される。かくして、標的物質の不存在下にて、常磁性イオンをキレート化する本発明の金属イオン錯体は、局所環境の水分子と迅速に交換できる配位部位の有効性を低下させた。かかる状況において、水配位部位は、キレート化剤の配位原子および少なくとも一つのブロッキング基によって実質的に占有され遮断される。かくして、常磁性イオンは、その「内部-配位範囲」中に水分子を実質的に持たず、すなわち、標的物質が存在である場合に、金属と実際に結合する。それは、常磁性金属イオンと内部配位範囲水分子のプロトンとの相互作用であり、高く観察された

緩和度を引き起こすかかる水分子の迅速な交換、およびかくして常磁性金属イオンの画像効果である。従って、標的物質が存在する場合のごとく、金属イオン錯体中の金属イオンの全ての配位部位が水分子以外の基で占有されるならば、本発明の金属イオン錯体による画像シグナルの正味の増強はもしあっても少ない。しかしながら、標的物質が存在する場合に、該標的物質は、該ブロッキング基または金属イオン錯体基と相互作用し、金属イオン錯体上の少なくとも一つの内部範囲の配位部位を効果的に自由にする。次いで、局所環境の水分子は、内部範囲配位部位または部位を占有するのに利用でき、それは水の交換速度および水へ向かっての金属イオン錯体の緩和度を増大させる、それによって標的物質の存在の尺度である画像増強を生じさせる。

【0022】

一般的に画像を生成するために用いたMR Iシグナルの2ないし5%変化は、検出するのに十分である。かくして、標的物質の存在下の本発明の薬剤が、標的物質の不存在下のシグナル獲得に比較して少なくとも2ないし5%までMR Iシグナルを増強させることは好ましい。該ブロッキング基との標的物質の相互作用によって利用される各配位部位について、2ないし90%のシグナル増強が好ましく、10ないし50%がより好ましい。すなわち、該ブロッキング基が2以上の配位部位を占有する場合に、該ブロッキング基の遊離の結果、シグナルにおける増大を倍増し、単一配位部位に比較して大きくなる。

【0023】

いずれの特定の配位部位にての標的物質の不存在においても、該ブロッキング基の配位原子および水分子間のごとき1以上の配位部位についての動的平衡があるであろうと考えるべきである。すなわち、配位原子が金属に剛直に結合する場合でさえ、その部位にて水分子のいくつかの交換があるであろう。しかしながら、大部分の事例では、水分子のこの交換は、迅速でも有意でもなく、有意な画像増強が生じない。しかしながら、標的物質への曝露に際して、該ブロッキング基は、配位部位から追い出され、水の交換は増大する、すなわち、迅速な交換であり、従って緩和度における増大は、かなりの画像増強と共に生じ得る。

【0024】

本発明の錯体は、キレート化剤およびブロッキング基を含む。本発明の金属イオン錯体は、キレート化剤およびブロッキング基を含む錯体と結合した常磁性金属イオンを含む。本明細書の「常磁性金属イオン」、「常磁性イオン」または「金属イオン」とは、磁場に平行または逆平行に、その場に比例した大きさで磁化された金属イオンを意味する。一般的に、これらは、非対合の電子を有する金属イオンであり；これは当該技術分野において理解される用語である。適当な常磁性金属イオンの実施例は、ガドリニウム III (Gd^{3+} または $\text{Gd}(\text{III})$)、鉄 III (Fe^{3+} または $\text{Fe}(\text{III})$)、マンガニウム II (Mn^{2+} または $\text{Mn}(\text{II})$)、イットリウム III (Yt^{3+} または $\text{Yt}(\text{III})$)、ジスプロシウム III (Dy^{3+} または $\text{Dy}(\text{III})$) およびクロム III ($\text{Cr}(\text{III})$) または Cr^{3+} を含むが、それらに限定されるものではない。好ましい具体例において、常磁性イオンは、その高い磁気モーメント ($U^{\text{eff}} = 6.3 \text{ BM}$)、対称の電子基底状態 ($S=0$) およびヒトにおける診断的使用につき現在承認されたためにランタニド原子 $\text{Gd}(\text{III})$ である。

【0025】

金属イオンに加えて、本発明の金属イオン錯体は、キレート化剤およびキレート化剤と共有結合できるブロッキング基を含む。多くの常磁性イオンの比較的高い毒性のために、該イオンは、結合によって生理系において、適当なキレート化剤へ非毒性とされる。かくして、標的物質の存在下で水分子のために配位部位を空けることができるキレート化剤の配位部位におけるブロッキング基の置換は、金属イオン錯体についての解離の半減期を減少させることによって、金属イオン錯体をより毒性とすることができる。かくして、好ましい具体例において、単一の配位部位だけが、ブロッキング基によって占有され、遮断される。しかしながら、いくつかの適用、例えば、組織等の分析では、金属イオン錯体の毒性は、最も重要ではあり得ない。同様に、いくつかの金属イオン錯体は安定であるので、ブロッキング基での1以上のさらなる配位原子の置換でさえ、解離の半減期にかなり影響しない。例えば、後記のDOTAは、 $\text{Gd}(\text{III})$ とで錯体化する場合に、非常に安定である。従って、DOTAがキレート化剤として供された場合、キレート化剤のいくつかの配位原子は、毒性のかなりの増大なくしてブロッキング基と置換できる。さらに、かかる薬剤は、ハルク溶媒で水を迅速に交換する2

以上の配位部位を有するためにより大きなシグナルを潜在的に生じる。

【0026】

エンタルピーおよびエントロピー効果を含めたキレート金属イオン錯体の選択および安定性に影響する様々な因子がある(例えば、配位結合基の数、荷電および塩基度、配位子場ならびに立体配置効果)。

【0027】

一般的に、該キレート化剤は、金属イオンと結合する配位原子を含む配位部位数を有する。該配位部位数、かくしてキレート化剤の構造は、金属イオンに依存する。本発明の金属イオン錯体において用いられたキレート化剤は、金属イオン錯体の少なくとも一つの配位部位が後記のごときブロッキング基によって占有され、遮断されて金属イオン錯体に対する官能価を与えられるために、好ましくは金属イオンが結合できる(n)より少なくとも一つ少ない配位原子($n-1$)を有する。かくして、例えば、Gd(III)は、8つの強く会合した配位原子または配位子を有し、第九配位子と弱く結合できる。従って、Gd(III)についての適当なキレート化剤は、9個未満の配位原子を有するであろう。好ましい具体例において、Gd(III)キレート化剤は、金属イオン錯体において残った部位を占有し、または遮断するかはいずれかのブロッキング基を持つ8つの配位原子を有する。別法の具体例においては、本発明の金属イオン錯体において用いられたキレート化剤は、金属イオンが結合できる(n)より2つ少ない配位原子($n-2$)を有し、これらの配位部位は以上のブロッキング基を占有する。かくして、別法の具体例は、残った部位を占有し、または遮断するかはいずれかのブロッキング基を持つ少なくとも5つの配位原子、好ましくは少なくとも6つの配位原子、特に好ましくは8個でGd(III)キレート化剤を利用する。キレート化剤およびブロッキング基の正確な構造を決定するのが難しく、かくして配位原子の正確な数は不明であることが認められている。例えば、キレート化剤が分数または整数でない数の配位原子を供し；すなわち、キレート化剤が7.5個の配位原子を供し、すなわち、第八配位原子が平均して金属イオンに十分に結合していないという可能性がある。しかしながら、金属イオン錯体は、その部位にて第八配位原子が十分に結合して迅速な水の交換を防止し、および/または該ブロッキング基がその部位に

て迅速な水の交換を妨げるならば、依然として機能的であり得る。

【0028】

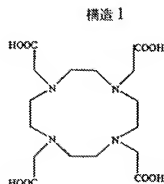
ランタニドおよび常磁性イオンをキレート化するのに用いる非常に多数の公知の大環状のキレート化剤または配位子がある。例えば、非常に多数の大環状のキレート化剤およびそれらの合成を記載する Alexander, Chem. Rev. 95: 273-342 (1995) および Jackels, Pharm. Med. Imag. 第III節、第20章、p 645 (1990) (ここに出典明示して本明細書の一部とみなす) 参照。同様に、米国特許第5,155,215号、第5,087,440号、第5,219,553号、第5,188,816号、第4,885,363号、第5,358,704号、第5,262,532号および Meyerら、Invest. Radiol. 25: 553 (1990) (ここにまた、出典明示して本明細書の一部とみなす) を含めた、本発明における使用についての適当なキレート化剤を記載する多数の特許がある。かくして、当業者に理解されるごとく、いずれの公知の常磁性金属イオンキレート化剤またはランタニドキレート化剤も本明細書の教示を用いて容易に修飾でき、さらに少なくとも一つのブロッキング基を含み得る。

【0029】

金属イオンが Gd(III) である場合、キレート化剤は 1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N'',N'''-四酢酸(DOTA)または置換DOTAである。DOTAは以下の構造を有する：

【0030】

【化5】



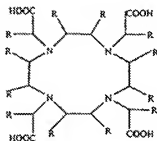
【0031】

本明細書の「置換DOTA」とは、下記に示すごとく、DOTAはいずれかの
 続いての位置にて置換できることを意味する：

【0032】

【化6】

構造 2



【0033】

適当なR置換基は、当業者によって理解されるであろうごとく、非常に様々な基を含む。例えば、適当な置換基は、米国特許第5,262,532号、第4,885,363号および第5,358,704号におけるDOTAおよびDOTA-タイプ化合物について開示された置換基を含む。これらの基は、水素、置換アルキル基およびヘテロアルキル基を含めたアルキル基、置換アリールおよびヘテロアリール基を含めたアリール基、リン基およびブロック基を含む。当業者によって認められるごとく、好ましい具体例において単一な水素でないR基がいくつかの特定の位置にて結合するけれども、上記の各位置は結合した2つのR基(R'およびR'')を有し；すなわち、好ましくは、各位置にて少なくとも一つのR基が水素である。かくして、Rがアルキルまたはアリール基ならば、本明細書に示さないが一般的に炭素に結合したさらなる水素がある。好ましい具体例において、一つのR基は、ブロック基であって、他のR基は水素である。

【0034】

「アルキル基」または本明細書の文法上の同等物は、直鎖または分岐した鎖アルキル基を意味し、直鎖アルキル基が好ましい。分岐ならば、1以上の位置にて分岐でき、特定されない限りはいずれの位置にても分岐できる。また、アルキルの定義内に含まれるのは、ヘテロ原子が窒素、酸素、リン、硫黄または珪素か

ら選択されるヘテロアルキル基である。また、アルキル基の定義内に含まれるのは、C5およびC6環、ならびにヘテロシクロアルキルのごときシクロアルキル基である。

【0035】

さらに適当な複素環の置換環は、米国特許第5,087,440号(ここに出典明示して本明細書の一部とみなす)に示される。いくつかの具体例において、2つの隣接したR基は、米国特許第5,358,704号(ここに出典明示して本明細書の一部とみなす)に記載されたごとく、一緒に結合してキレート化剤の炭素原子と共に環構造を形成する。これらの環構造は、同様に置換できる。

【0036】

アルキル基は、約1ないし20個の炭素原子(C1-C20)の範囲であり得、好ましい具体例は約1ないし約10個の炭素原子(C1-C10)を利用し、約C1ないし約C5が好ましい。しかしながら、いくつかの具体例において、アルキル基は、例えば、アルキル基が配位部位バリアーである場合に大きくなり得る。

【0037】

本明細書の「アルキルアミン」または文法上の同等物とは、いずれかの位置にてアミン基と置換される前記定義のごときアルキル基を意味する。さらに、アルキルアミンは、アルキル基につき上記に概説した他の置換基を持ち得る。該アミンは、第一(-NH₂R)、第二(-NHR₂)または第三(-NR₃)であり得る。該アミンが第二または第三アミンである場合に、適当なR基は前記定義のごときアルキル基である。好ましいアルキルアミンは、p-アミノベンジルである。アルキルアミンが後記のごとき配位部位バリアーとして供される場合に、好ましい具体例は、例えば、該アルキルアミンがピリジンまたはピロール環を含む場合、配位原子としてアミンの窒素原子を利用する。

【0038】

「アリール基」または文法上の同等物とは、フェニルのごとき芳香族アリール環、ピリジン、フラン、チオフェン、ピロール、インドールおよびプリンのごとき複素環の芳香族環ならびに窒素、酸素、硫黄またはリンとの複素環を意味する

【0039】

「アルキル」および「アリール」の定義内に含まれるのは、置換アルキルおよびアリール基である。すなわち、該アルキルおよびアリール基は、1以上の置換基で置換でき、例えば、フェニル基は置換フェニル基であり得る。適当な置換基は、塩素、臭素およびフッ素のごときハロゲン、アミン、ヒドロキシ基、カルボン酸、ニトロ基、カルボニルおよび他のアルキルならびに本明細書に定義のごときアリール基を含むが、限定されるものではない。かくして、アリールアルキルおよびヒドロキシアルキル基も本発明における使用につき適当である。好ましい置換基は、アルキルアミンおよびアルキルヒドロキシを含む。

【0040】

本明細書の「リン基」とは、 $-PO(OH)(R_{28})_2$ 基を含めた基を意味する。リンはアルキルリンであり得；例えば、DOTE PはDOTA上の置換基としてエチルリンを利用する。 R_{28} は、アルキル、置換アルキル、ヒドロキシであり得る。好ましい具体例は $-PO(OH)_2$ R_{28} 基を有する。

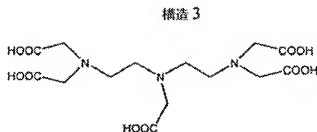
また、該置換基は、後記のごとく、水素またはブロッキング基であり得る。

【0041】

別法の具体例において、金属イオンがGd(III)である場合、好ましいキレート化剤は、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)または置換DTPAである。DTPAは、以下に示す構造を有する：

【0042】

【化7】



【0043】

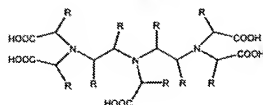
本明細書の「置換DTPA」とは、DTPAが以下に示すごとくいずれかの次

の位置にて置換できることを意味する：

【0044】

【化8】

構造 4



【0045】

例えば、米国特許第5,087,440号参照。

適当なR置換基は、DOTAについて概説されたものを含む。再度、当業者ならば、本明細書に記載されごとく、各位置にての少なくとも一つの基が水素であり、それは本明細書に一般的に示さないが、上記の各位置にて2つのR基(R'およびR'')があり得ることを認めるであろう。

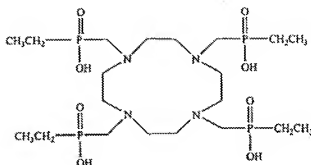
【0046】

別法の具体例において、該金属イオンがGd(III)である場合、好ましいキレート化剤は1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N'',N'''-テトラエチルリン(DOTEP)または置換DOTEPである(米国特許第5,188,816号参照)。DOTEPは、以下に示す構造を有する：

【0047】

【化9】

構造 5



【0048】

DOTEPは、上記に概説ごとき同様のR置換基を有し得る。

他の適当なGd(III)キレート化剤は、とりわけ、Alexander、同上、Jackels、同上、米国特許第5,155,215号、第5,087,440号、第5,219,553号、第5,188,816号、第4,885,363号、第5,358,704号、第5,262,532号およびMeyerら、Invest. Radiol. 25:553(1990)に記載される。

【0049】

常磁性イオンがFe(III)である場合、適当なキレート化剤は、Fe(III)が6つの配位原子と結合できるために、6個未満の配位原子を有する。Fe(III)イオンのための適当なキレート化剤は、当該技術分野においてよく知られている。例えば、そのすべてがFe(III)に適したキレート化剤を記載する、Laufferら、J. Am. Chem. Soc. 109:1622(1987); Lauffer, Chem. Rev. 87:901-927(1987); および米国特許第4,885,363号、第5,358,704号および第5,262,532号参照。

【0050】

常磁性イオンがMn(II)(Mn+2)である場合、適当なキレート化剤は、Mn(II)が6または7つの配位原子を結合できるために、5または6個未満の配位原子を有する。Mn(II)イオンのための適当なキレート化剤は、当該技術分野においてよく知られている。例えば、Lauffer, Chem. Rev. 87:901-927(1987)ならびに米国特許第4,885,363号、第5,358,704号および第5,262,532号参照。

【0051】

常磁性イオンがYt(III)である場合、適当なキレート化剤は、Yt(III)が8または9つの配位原子を結合できるために、7または8個未満の配位原子を有する。Yt(III)イオンのための適当なキレート化剤は、DOTAおよびDPTAならびにその誘導体を含むが、限定されるものではなく(Moiら、J. Am. Chem. Soc. 110:6266-6267(1988)参照)、それらのキレート化剤は、上記に概説したごとく、米国特許第4,885,363号等に記載される。

【0052】

常磁性イオンが $Dy+3(Dy(III))$ である場合、適当なキレート化剤は、 $Dy(III)$ が8または9つの配位原子を結合できるために、7または8個未満の配位原子を有する。適当なキレート化剤は、上記のごとく当該技術分野において知られている。

【0053】

好ましい具体例において、該キレート化剤および該ブロッキング基は、共有結合する；すなわち、該ブロッキング基は該キレート化剤の置換基である。この具体例において、結合した金属イオンを持つ置換キレート化剤は、標的物質の不存在下にて、すべての可能な配位部位を占有しまたは遮断させる金属イオン錯体を含み；すなわち、それは配位的に飽和される。

【0054】

別法の具体例において、該キレート化剤および該ブロッキング基は、共有結合しない。この具体例において、該ブロッキング基は、標的物質の不存在下にて、金属イオンについて十分に親和性を有して、水分子の迅速な交換を防止する。しかしながら、この具体例において、該ブロッキング基は、金属イオンについてより標的物質に高い親和性を有する。従って、標的物質の存在下にて、該ブロッキング基は、金属イオンから追い出される傾向を有して、標的物質と相互作用し、かくして、金属イオン錯体における配位部位を自由にし、迅速な水の交換および緩和度の増大を可能とするであろう。

【0055】

重要なことは、金属イオン、該キレート化剤および該ブロッキング基を含む金属イオン錯体が、ブロッキング基が金属イオンの内部配位範囲にある場合に、水分子を迅速に容易に交換できず、標的物質の不存在下にて実質的な画像増強はないかまたはほとんどないことである。。

【0056】

本明細書の「ブロッキング基」または文法上の同等物とは、標的物質と相互作用でき、ある種の環境下で金属イオン錯体の金属イオンの少なくとも一つの内部配位部位において水の交換を実質的に遮断できる、本発明の該キレート化剤金属

イオン錯体と会合した官能基を意味する。例えば、本発明の金属イオン錯体と結合または会合した場合、標的物質の不存在下にて、該ブロッキング基は、金属イオンの少なくとも一つの配位部位を占有しまたは遮断する。かくして、該金属イオンは、標的物質の不存在下にて、該キレート化剤および該ブロッキング基または複数の基で配位的に飽和される。

【0057】

ブロッキング基は、いくつかの成分を含み得る。該ブロッキング基は、以下に概説されるごとく、標的物質と相互作用できる官能基を有する。この官能基は、該ブロッキング基の配位原子(配位原子団)を供することができ、またはできない。さらに、ブロッキング基は、1以上のリンカー基を含んで、該ブロッキング基の成分の正確なスペーシング(spacing)および結合を可能とする。さらに、該ブロッキング基の官能基が配位原子に寄与しない具体例において、該ブロッキング基は、配位部位原子を供するか、または配位部位にて立体的に迅速な水の交換を防止するかのいずれかに機能する配位部位バリアーを含み；すなわち、該配位部位バリアーは、その配位部位を占有するかまたは遮断する。

【0058】

本明細書の「標的物質と相互作用できる」とは、標的物質が存在する場合に、該ブロッキング基が、金属イオン錯体の少なくとも一つの配位部位を遮断するまたは占有するのを止めるように、該ブロッキング基が標的物質につき親和性を有することを意味する。かくして、上記に概説したごとく、該ブロッキング基は、標的物質が不存在下にて、金属イオンの少なくとも一つの配位部位を遮断し、または占有している。しかしながら、標的物質の存在下にて、該ブロッキング基は、標的物質と会合しまたは相互作用し、該金属イオンとのその会合から解放され、かくして、この部位にて迅速な水の交換が生じることができるよう、該金属イオンの少なくとも一つの配位部位を自由にする結果、画像を増強する。

【0059】

該ブロッキング基および該標的物質間の相互作用の性質は、MRIを介して検出されまたは視覚化されるべき標的物質に依存するであろう。例えば、適当な標的物質は、といわけ、酵素；蛋白質；ペプチド；核酸； Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+}

、 K^+ 、 Cl^- および Na^+ のごときイオン；cAMP；細胞表面受容体および配位子受容体のごとき受容体；ホルモン；抗原；抗体；ATP；NADH；NADPH；FADH₂；F₂NNH₂；補酵素A（アシルCoAおよびアセチルCoA）；およびビオチンを含むが、それらに限定されるものではない。

【0060】

いくつかの具体例において、例えば、該ブロッキング基が標的酵素に対する曝露に際して切断する酵素基質を含む場合に；該ブロッキング基が配位部位を遮断しまたは占有するために再会合しないように、相互作用の性質は不可逆的である。あるいは、例えば、該ブロッキング基が、以下に概説されるごとく、イオン配位子または受容体配位子を含む場合に；該ブロッキング基が該錯体と再会合して水の交換を妨げるように、相互作用の性質は可逆的である。

対応するブロッキング基は、酵素基質または阻害剤、受容体配位子、抗体、抗原、イオン結合物、実質的に相補的な核酸、核酸結合蛋白質等であろう。

【0061】

好ましい具体例において、該標的物質は酵素であって、該ブロッキング基は酵素基質である。この具体例において、該ブロッキング基は、本発明の金属イオン錯体から切断され、金属イオン錯体の少なくとも一つの配位部位において、水の交換を可能とする。この具体例は、標的物質の単一分子が多くの活性化された金属イオン錯体、すなわち、該ブロッキング基がもはや金属イオンの配位部位を占有しまたは遮断しない金属イオン錯体を生成できるために、画像増強の増幅を可能とする。

【0062】

当業者によって認められるごとく、可能な酵素標的物質は、非常に広域である。該標的物質の酵素は、例えば、診断目的のために、疾患状態との相関に基づいて選択される。あるいは、本発明の金属イオン錯体を用いて、かかる相関を確立できる。

【0063】

適当なクラスの酵素は、プロテアーゼ、カルボヒドラーゼ、リパーゼおよびヌクレアーゼのごとき加水分解酵素；ラセマーゼ、エピメラーゼ、タウトメラーゼ

(tautomerase)またはムターゼのごとき異性化酵素；転移酵素、キナーゼおよびホスファターゼを含むが、それらに限定されるものではない。

【0064】

当業者によって認められるごとく、適当な酵素標的の潜在的なリストは、非常に大きい。循環器系内の動脈硬化プラークおよび障害の生成および維持、炎症、創傷、免疫応答、腫瘍に関連した酵素は、本発明を用いてすべて検出できる。また、ラクトース、マルトース、スクロースまたは転化酵素のごとき酵素、セルラーゼ、 α -アミラーゼ、アルドラゼ、グリコーゲンホスホリラーゼ、ヘキソキナーゼのごときキナーゼ、セリン、システイン、アスパルチルおよびメタロプロテアーゼのごときプロテアーゼは検出でき、トリプシン、キモトリプシンならびにtPAおよび血栓溶解カスケードの他のプロテアーゼのごとき他の治療に関連したセリンプロテアーゼ；カテプシンB、L、S、H、J、NおよびOを含めたカテプシンを含むシステインプロテアーゼ；およびカルパイン；およびカスベース(caspase)-3、-5、-8およびアポトーシス経路(apoptotic pathway)の他のカスベースのごときカスベース、およびインターロイキン-変換酵素(ICE)を含むが、それらに限定されるものではない。同様に、細菌およびウイルス感染は、独特な細菌およびウイルス酵素を介して検出できる。当該技術分野において認められるごとく、このリストは、限定されることを意味しない。

一旦、標的酵素が同定されまたは選択されたならば、酵素基質ブロッキング基は、酵素基質特異性のよく知られたパラメーターを用いて設計できる。

【0065】

例えば、酵素標的物質がプロテアーゼである場合、標的プロテアーゼによって切断できるブロッキング基は、ペプチドまたはポリペプチドであってもよい。本明細書の「ペプチド」または「ポリペプチド」は、ペプチド結合によって共有結合した約2ないし約15個のアミノ酸残基の化合物を意味する。好ましい具体例は、約2ないし約8つのアミノ酸のポリペプチドを利用し、約2ないし約4個が最も好ましい。好ましくは、アミノ酸アナログおよびペプチド類似構造も有用であるために、アミノ酸は、天然発生のアミノ酸である。ある種の環境下では、ペプチドは、単一アミノ酸残基だけでよい。

【0066】

同様に、酵素標的物質がカルボヒドラーゼである場合、該ブロッキング基は、標的カルボヒドラーゼによって切断できる炭水化物基であろう。例えば、酵素標的がラクターゼまたは β -ガラクトシダーゼである場合、酵素基質ブロッキング基は、ラクトースまたはガラクトースである。同様の酵素/ブロッキング基対は、スクラーゼ/スクロース、マルターゼ/マルトースおよびアミラーゼ/アミロースを含む。

【0067】

もう一つの具体例において、該ブロッキング基は、酵素の存在下にて、阻害剤ブロッキング基が金属イオン錯体から解離して、該酵素と相互作用しまたは結合し、かくして水との相互作用について金属イオンの内部配位範囲部位を自由にするように、酵素阻害剤であり得る。上記のごとく、酵素阻害剤は酵素標的物質および該酵素の対応する公知の特性に基づいて選択される。

【0068】

好ましい具体例において、該ブロッキング基は前記定義のごとく、 n が1ないし約10、1ないし5が好ましく、1ないし3が特に好ましい $-(OPO(OR_x))_n$ のごときリン基である。各 R は、独立して水素または本明細書に定義のごとき置換基であり、水素が好ましい。この具体例はアルカリフォスファターゼまたはホスホジエステラーゼもしくは、これらのごとき基を含むリンを切断することが知られている他の酵素である場合に、特に有用である。

【0069】

一の具体例において、該ブロッキング基は核酸である。該核酸は、一本鎖または二本鎖であり得、ペプチド核酸のごとき核酸アナログ、およびホスホルチオエート、ホスホルアミデート、モルホリノ構造等のごときリボース-リン酸骨格の他のよく知られた修飾を含む。該標的分子は、実質的に相補的な核酸または蛋白質のごとき核酸結合基であってもよい。

【0070】

好ましい具体例において、該標的物質は生理学的薬剤である。酵素/基質の具体例についてのごとく、該生理学的薬剤は、生理学的薬剤の存在下にて、金属イ

オン錯体の少なくとも一つの内部範囲の配位部位における迅速な水の交換があるように、金属イオン錯体のブロッキング基と相互作用する。かくして、標的物質は、生理学的に活性なイオンであり得、該ブロッキング基は、イオン結合配位子である。例えば、実施例に示すごとく、標的物質は、 Ca^{2+} イオンであり得、該ブロッキング基は、当該技術分野において知られることきカルシウム結合配位子であり得る(Grynkiewiczら、J. Biol. Chem. 260(6):3440-3450(1985); Haugland, R.P., Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals(1989-1991))。他の適当な標的イオンは、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Na^{+} 、および Cl^{-} を含む。

【0071】

Ca^{2+} が標的物質である場合、好ましいブロッキング基は、ビス(o-アミノフェノキシ)エタン-N,N,N',N'-四酢酸(BAPTA)、エチレングリコール ビス(β -アミノエチルエーテル)-N,N,N',N'-四酢酸(EGTA)の酢酸基；エチレンジアミン四酢酸(EDTA)；およびIshen, Biochem. 19:2396-2404(1980)に開示されることきその誘導体を含むが、それらに限定されるものではない。キン2(2-[2-[ビス(カルボキシメチル)アミノ]-5-メチルフェノキシ]メチル-6-メトキシ-8-[ビス(カルボキシメチル)アミノ]キノリン；fura-1、fura-2、fura-3、stil-1、stil-2およびindo-1のごとき Ca^{2+} および他の二価イオンの他の公知のキレート化剤(Grynkiewiczら、同上、参照)。

【0072】

酵素/基質 具体例についてのごとく、代謝物は、動物内の特定の疾患または疾病と関連できる。例えば、以下に概説されるごとく、BAPTA-DOTA誘導体を用いて、アルツハイマー病および他の神経疾患を診断できる。

【0073】

好ましい具体例において、該ブロッキング基は、細胞表面受容体についての配位子であり、または細胞外成分について親和性を有する配位子である。この具体例において、生理学的薬剤具体例についてのごとく、標的物質の不存在下にて、該配位子は金属イオンについて十分な親和性を有して、水分子の迅速な交換を防

止する。あるいは、本明細書にきさいのごとく、位置に配位子を「ロッキング」のR基であり得、その結果、配位子に寄与するかまたは配位子が配位部位バリエーションとして機能するかのいずれかである。この具体例において、配位子ブロッキング基は、金属イオンより標的物質についてより高い親和性を有する。従って、標的物質の存在下にて、配位子ブロッキング基は標的物質と相互作用し、かくして金属イオン錯体における少なくとも一つの配位部位を自由し、迅速な水の交換および緩和度の増大を可能とする。この具体例において、この結果、標的の局在にて、例えば細胞表面にてMRI剤が蓄積する。これは、同様に、該ブロッキング基が酵素阻害剤である状態と同様であり得る。

【0074】

好ましい具体例において、該ブロッキング基は光切断可能基である。すなわち、ある種の波長の光に対する曝露に際して、該ブロッキング基が切断され、錯体の少なくとも一つの配位部位における水の交換速度を増大できる。この具体例は、特定の細胞の死滅に続く能力が望ましい発生物学分野(細胞系統、神経発生等)において特定の使用を有する。適当な光切断可能基は、光に対する曝露に際して切断する「ケージド(caged)」試薬と同様である。特に好ましいクラスの光切断可能基は、0-ニトロベンジル化合物であり、それは、エーテル、チオエーテル、(リン酸エステルを含めた)エステル、アミンを介してブロッキング基に合成的に組込まれ、ヘテロ原子(特に 酸素、窒素または硫黄)に同様に結合する。非常に様々な適当な光切断可能基は、同上のMolecular Probes Catalogに概観される。

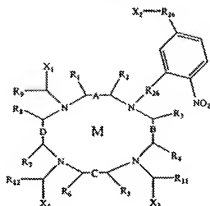
【0075】

好ましい具体例において、該化合物は、構造18において下記に示された構造を有し、それは、ニトロベンジル光切断可能基を示し、当業者によって認識されるとはいえ、非常に様々な他の基を用いることができる：

【0076】

【化10】

構造 18



【0077】

構造 18 は、DOTA ータイプのキレート化剤を示し、当業者によって認識されるとはいえ、他のキレート化剤を同様に用いることもできる。R₃₀ は後記されるごときリンカーである。同様に、X₁ 基は前記定義に同じであるが、さらなる構造、例えば、本明細書に概説されるごとき配位部位バリアーを用いることもできる。同様に、当該技術分野において知られるごとき芳香族環の置換基であつてもよい。

【0078】

該ブロッキング基自体は、金属イオンの少なくとも一つの配位部位を遮断できまたは占有でき、すなわち、該ブロッキング基の 1 以上の原子(すなわち、生理学的薬剤、光切断可能基等と相互作用する酵素基質、配位子、基)自体は、配位原子として機能し、または他のブロックは、立体的妨害によって金属イオンに近づく。例えば、実施例において概説されたガラクトース ブロッキング基の 1 以上の原子は、Gd(III) 金属イオンについての直接的配位原子であり得るらしい。同様に、プロテアーゼ標的についてのペプチドベースのブロッキング基は、配位原子に寄与できる。

【0079】

別法の具体例において、該ブロッキング基は、標的物質との相互作用に際して脱会合を可能とするような方法において錯体に共有的に束縛する「配位部位バリアー」をさらに含む。例えば、それは、1 以上の酵素基質ブロッキング基によ

て束縛できる。この具体例において、配位部位バリアーは、標的酵素物質の不存在下にて金属イオンの少なくとも一つの配位部位を遮断し、または占有する。配位部位は、配位原子が該ブロッキング基の官能部分、すなわち、標的物質と相互作用する該ブロッキング基の成分によって供給されない場合に用いられる。該ブロッキング基または酵素基質のごとき基は、つなぎ鎖として機能し、金属イオン錯体に配位部位バリアーを共有結合させる。酵素標的の存在下にて、該酵素は、基質内または金属イオン錯体に対する結合点にて1以上の酵素基質を切断し、かくして配位部位バリアーを自由にする。該配位部位または部位は、もはや遮断されず、バルク水は、金属イオンの配位部位にての迅速な交換に自由であり、かくして、画像を増強する。当業者によって認められるごとく、同様の結果は、他のタイプのブロッキング基で達成できる。

【0080】

一の具体例において、該配位部位バリアーは、図1に示すごとく、一端にて金属イオン錯体と結合する。酵素標的が基質ブロッキング基を切断する場合に、該配位部位バリアーは解放される。もう一つの具体例において、該配位部位バリアーは、2つの結合についての図2において示すごとく、1を超え基質ブロッキング基で金属イオン錯体に結合する。該酵素標的は、一側のみを切断させ、かくして、配位部位バリアーを除去し、配位部位にて水の交換を可能とできるが、金属イオン錯体に結合した配位部位バリアーを残すことができる。別法として、該酵素は、金属イオン錯体から完全に配位部位バリアーを切断できる。

【0081】

好ましい具体例において、該配位部位バリアーは、金属イオンの少なくとも一つの配位部位を占有する。すなわち、該配位部位バリアー金属イオンについて少なくとも一つの配位原子として機能する少なくとも一つの原子を含む。この具体例において、該配位部位バリアーは、アルキルピリジン、アルキルピロリン、アルキルピロリジンおよびアルキルピロールまたはカルボキシルまたはカルボニル基を含めた、前記定義のごときアルキルアミン基のごときヘテロアルキル基であり得る。また、配位原子に寄与しない一部の配位部位バリアーは、リンカー基と考えられる。好ましい配位部位バリアーを図2に示す。

別法の具体例において、該配位部位バリアーは、配位部位に直接的に占有しないが、代わりに立体的に部位を遮断する。この具体例において、該配位部位バリアーは、前記定義のごときアルキルまたは置換基、またはペプチド、蛋白質、核酸等の他の基であり得る。

【0082】

この具体例において、該配位部位バリアーは、図2に示すごとく、好ましくは、2つの酵素基質を介して金属イオン錯体の反対側に結合し、金属イオン錯体の配位部位または部位を超えて配位部位バリアーを有効に「伸ばす」。

【0083】

いくつかの具体例において、該配位部位バリアーは、以下に定義すごとく、一侧の酵素基質を介して伸び、他方の金属イオン錯体およびリンカー基に共有結合できる。別法の具体例において、該配位部位バリアーは、一侧の単一酵素基質を介して結合し；すなわち、金属イオンについての配位部位バリアーの親和性は、水のものより高く、かくして、配位部位バリアーおよび酵素基質を含む該ブロッキング基は、標的酵素の不存在下にて利用可能な配位部位を遮断しまたは占有するであろう。

【0084】

いくつかの具体例において、本発明の金属イオン錯体は、単一の会合したまたは結合したブロッキング基を有する。かかる具体例において、該単一のブロッキング基は、少なくとも一つの配位部位において水分子の交換を妨げる。あるいは、以下に概説されごとく、単一なブロッキング基は、1を超える配位部位または異なるキレート化剤の配位部位において水分子の交換を妨げることができる。

【0085】

別法の具体例において、2以上のブロッキング基は、単一な金属イオン錯体と会合して、少なくとも1以上の配位部位にて水の交換を妨げる。

【0086】

本発明のブロッキング基は、リンカー基ならびに官能ブロッキング基をさらに含み得ることは認められている。すなわち、ブロッキング基は、リンカー基および/または配位部位バリアーと組合せて官能ブロッキング基を含み得る。

【0087】

リンカー基(時折、本明細書でR₂として示す)を用いて、金属イオン錯体の立体的考察を最適化する。すなわち、該ブロッキング基と金属イオンとの相互作用しを最適化するために、リンカーを導入して、官能ブロッキング基が配位部位を遮断または占有するのを可能とできる。一般的に、該リンカー基を選択して、構造の柔軟性の程度を可能とする。例えば、ブロッキング基は、生理学的薬剤と相互作用した結果、該ブロッキング基が錯体から切断せず、少なくとも一つの配位部位にて水の交換を増大するように、該リンカーが錯体に対する該ブロッキング基のいくつかのモーメントを可能にしなければならない。

【0088】

一般的に、安定なリンカー基は、置換アルキルおよびアリール基ならびにヘテロアルキル(特にオキソ基)を含めたアルキルおよびアリール基、ならびに前記定義のごときアルキルアミン基を含めたヘテロアリール基を含むが、それらに限定されるものではない。好ましいリンカー基は、p-アミノベンジル、置換p-アミノベンジル、ジフェニルおよび置換ジフェニル、ベンジルフランのごときアルキルフラン、長さが1ないし10個の炭素のカルボキシおよび直鎖アルキル基を含む。特に好ましいリンカーは、p-アミノベンジル、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、酢酸、プロピオン酸、アミノブチル、p-アルキルフェノール、4-アルキルイミダゾールを含む。リンカー基の選択は、よく知られた分子モデリング技術を用いて一般的になして、金属イオンの配位部位または部位の障害を最適化する。さらに、実施例に概説されるごとく、このリンカーの長さは、最適な結果を達成するために非常に重要であり得る。図11に示すごとく、リンカーの長さ、すなわち、該キレート化剤および該ブロッキング基の配位原子(配位原子団)間の空間は、配位原子と金属イオンとの立体配置および会合に寄与し、かくして、該ブロッキング基による金属イオンの優れた遮断を可能とする。

【0089】

該ブロッキング基は、様々な方法で金属イオン錯体に結合する。好ましい具体例において、上記のごとく、該ブロッキング基は、リンカー基を介して金属イオ

ン錯体と結合する。あるいは、該ブロッキング基は、金属イオン錯体と直接的に結合し；例えば、以下に概説されるごとく、該ブロッキング基は、該キレート化剤の置換基であり得る。

【0090】

好ましい具体例において該キレート化剤の「腕」に結合した少なくとも一つのR基、例えば、DOTA構造のR₁、R₂XR₃またはR₄、またはDTPA構造のR₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄またはR₁₅は、(置換およびヘテロアルキル基を含めた)アルキルまたは(置換およびヘテロアリール基を含めた)アリールを含み、すなわち、水素より立体に大きい基である。これは、標準的なMRIコントラスト剤について知られるごとく、腕の配位原子を位置に「ロックする」方へ平衡を駆動するのに特に有用である。好ましい基は、C1ないしC6のアルキル基を含み、メチルが特に好ましい。

【0091】

これは、該ブロッキング基が、一つの「腕」を介して結合する場合、例えば、ブロッキング基がX₁ないしX₂(構造6)、位置S、T、UまたはV(構造8)または構造16の位置H、I、JまたはKである場合に、特に好ましい。

【0092】

しかしながら、あまりにも多くの基の含有は、実施例3に示すごとく、他の方向において平衡を駆動し、配位原子を位置の外に有効に「ロックする」ことができる。従って、好ましい具体例において、他の方法を用いて結合の方へ平衡を駆動する限りは、これらの位置の1つまたは2つだけが非-水素基である。

【0093】

該ブロッキング基は、様々なパラメーターを用いて選択し、設計される。配位部位バリアーを用いる具体例において、すなわち、該ブロッキング基の官能基が配位原子を提供せず；および配位部位バリアーが2側で固定され、獲得された場合に、それが位置に束縛されるために、金属イオン錯体についての該ブロッキング基の配位部位バリアーの親和性が大きいことは必要ではない。すなわち、この具体例において該錯体は、標的物質の不存在下にて「オフ」である。しかしながら、該ブロッキング基が該ブロッキング基のいくつかの回転または柔軟性を可能

とるように錯体と結合する、例えば、実施例のガラクトース具体例のごとき一側のみに結合する場合において、該ブロッキング基は、その時間の大部分それが配位部位を占有するように設計されるべきである。かくして、例えば、実施例1のガラクトース-DOTA構造は、 β -ガラクトシダーゼの存在下にてシグナルをおよそ20%増大を与え、かくして、ガラクトースブロッキング基が、配位部位をブロックまたは占有することと、溶液において自由に回転することとの間の平衡にある。しかしながら、本明細書に記載され、実施例3に示されるごとく、これらの薬剤は、キレート化剤のカルボン酸「腕」のR基を用いて「ロック」されて、その基の回転の自由を低下させ、かくして、標的の存在下にて「オフ」位置に平衡を有効に駆動する結果、かくして、シグナルの大きなパーセンテージを増加させる。

【0094】

図1に示すごとく、該ブロッキング基が2側で束縛される場合に、ブロッキング基および配位部位バリアーを選択して、該ブロッキング基が錯体と十分に会合するのを可能とする3つの基本的相互作用を最大化し、錯体の少なくとも一つの配位部位における迅速な水の交換を妨げると理解されるべきである。第一に、該ブロッキング基が錯体と会合するのを可能とするための該ブロッキング基および該金属イオン間の静電的相互作用があり得る。第二に、ファン・デア・ワールスおよび双極子間相互作用があり得る。第三に、配位子相互作用があり得、すなわち、該ブロッキング基の1以上の官能基は、金属についての配位原子として機能する。さらに、リンカー基を選択して、ある種の立体配置にさせ、または有利にさせて会合したブロッキング基の方へ平衡を駆動できる。同様に、分子における自由度を除くことは、特定の立体配置を優勢とさせることができる。かくして、例えば、該ブロッキング基がW、X、YまたはZにて結合する場合に、構造7のR₁ないしR₂に同等な位置にてのアルキル基、特にメチル基の添加は、該ブロッキング基がブロッキング位置を好むようにできる。同様な制限は、当業者によって認められるごとく、他の具体例において作成できる。

【0095】

さらにまた、金属イオンより下への該ブロッキング基の有効な「束縛」は、後

記のごとく、該キレート化剤錯体に対する該ブロッキング基の親和性を増大させるであろう他の非-共有相互作用において実行できる。

【0096】

潜在的なブロッキング基を容易に試験して、それらが機能的であるか；すなわち、それらが錯体の適当な配位部位または部位を十分に占有し、または遮断して、迅速な水の交換を防止するかをみることができる。かくして、例えば、錯体は、潜在的なブロッキング基で作成され、次いで画像実験なくして該キレート化剤と比較される。一旦、該ブロッキング基が十分な「ブロッカー」であることが示されれば、該標的物質を添加して実験を繰り返して、標的物質との相互作用が水の交換を増大させ、かくして画像を増強することを示す。

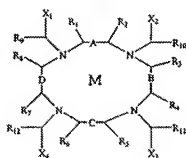
【0097】

かくして、上記に概説されるごとく、本発明の該金属イオン錯体は、キレート化剤および少なくとも一つのブロッキング基に結合した常磁性金属イオンを含む。好ましい具体例において、該金属イオン錯体は、以下の構造6に示される式を有する：

【0098】

【化11】

構造6



【0099】

構造6において、Mは、Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Yt(III)、Cr(III)およびDy(III)よりなる群から選択される常磁性金属イオンである。A、B、CおよびDは単結合または二重結合のいずれかである。R1ないしRn基は、置換アルキルおよびアリール基、リン基または上記のごときブロッキング基を

含めた前記定義のごときアルキルまたはアリール基である。 X_1 ないし X_4 は、 $-OH$ 、 $-COO-$ 、 $-(CH_2)_n.OH$ ($-CH_2.OH$ が好ましい)、 $-(CH_2)_n.COO-(CH_2.CO.O-)$ が好ましい) またはブロッキング基である。 n は 1 ないし 10 であり、1 ないし 5 が好ましい。少なくとも一つの R_1 ないし R_{12} および X_1 ないし X_4 はブロッキング基である。

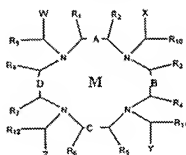
【0100】

構造 6 は、以下に示した構造 7 および 8 を含む：

【0101】

【化12】

構造 7



【0102】

この具体例において、 W 、 X 、 Y および Z は、 X についての前記定義に同じであり、少なくとも一つの R_1 ないし R_{12} 基はブロッキング基である。

【0103】

DOTA に適用されるごとく、DOTA 環の 4 つの窒素ならびに W 、 X 、 Y および Z 基は、常磁性金属イオンにつき 8 つの配位原子を供する。第九配位原子は、 R_1 ないし R_{12} 位のうち一つにて、置換されるブロッキング基によって供される。好ましい具体例において、他の R 基は、水素またはメチルのいずれかであり：特に好ましい具体例において、該キレート化剤は、DOTA 環の単一メチル基を有する Gd-MCTA である (Meyer ら、Invest. Radiol. 25 : S 53 (1990) 参照)。

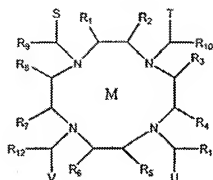
【0104】

別法の具体例において、該金属イオン錯体は、構造8に示した式を有する：

【0105】

【化13】

構造 8



【0106】

この具体例において、S、T、UおよびVは、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COO}^-$ 、 $-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ ($-\text{CH}_2\text{OH}$ が好ましい)、 $-(\text{CH}_2)_n\text{COO}^-$ ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$ が好ましい)またはブロッキング基である。この具体例において、DOTA環の4つの窒素およびS、T、UまたはV基のうち3つは、常磁性金属イオンについて7つの配位原子を提供する。残る配位原子は、S、T、UまたはV位のうち1つにて置換されるブロッキング基によって供される。あるいは、該配位部位は、S、T、UまたはV基によって供されたまたはS、T、UもしくはV構造によって遮断されたまたは両者の配位原子のいずれかによって満たされる。さらに、構造8は、A、B、CおよびD結合を示さないが、他の具体例についてのごとく、これらの結合は、単結合または二重結合のいずれかである。

【0107】

DOTAに適用のごとく、DOTA環の4つの窒素および(一般的に)3つのS、TおよびU基は、Gd(III)常磁性金属イオンにつき7つの配位原子を提供する。第八および第九配位原子は、S、T、UおよびV位のうち一つにて置換されるブロッキング基によって供される。上記のごとく、他のR基は、好ましくは水素またはメチルのいずれかであり、Gd-MCTAが特に好ましい。

【0108】

本明細書に示した構造において、A、B、CまたはDのうちのいずれかまたはすべては、単結合または二重結合である。1以上のこれらの結合が二重結合である場合、二重結合の炭素に結合した単一の置換基だけであり得ると考えるべきである。例えば、Aが二重結合である場合、各炭素に結合した単一R₁および単一R₂基のみがあり得；好ましい具体例において、後記のごとく、R₁およびR₂基は水素である。好ましい具体例において、Aは単結合であって、各炭素に2つのR₁基および2つのR₂基を有することができる。好ましい具体例において、これらの基は、単一のブロッキング基を除いてすべて水素であるが、別法の具体例は、同一または異なり得る2つのR基を利用する。すなわち、R₁位において結合した水素およびブロッキング基、およびR₂位における2つの水素、2つのアルキル基または水素およびアルキル基があり得る。

【0109】

X₁-X₂(構造6)S、T、U、V(構造8)またはW、X、YおよびZ(構造7)基の正確な組成物は、金属イオンの存在に依存すると考えるべきである。すなわち、金属イオンの不存在下にて、その基は、-OH、-COOH、(CH₂)_nOHまたは(CH₂)_nCOOHであり得；しかしながら、金属が存在する場合、その基は-OH、-COO⁻、-(CH₂)_nO⁻または(CH₂)_nCOO⁻である。

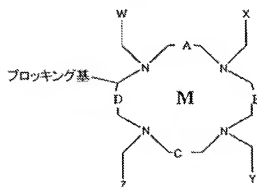
【0110】

好ましい具体例において、該組成物は、構造9に示される式を有する：

【0111】

【化14】

構造9



【0112】

この具体例において、金属イオン錯体に結合した単一のブロッキング基がある。すなわち、R基の1つを除くすべてが水素である。該ブロッキング基は、いずれのR位でもあり得ると認められるべきである。

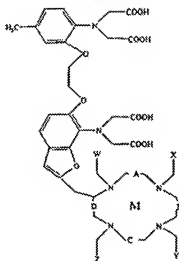
【0113】

好ましい具体例において、磁気共鳴造影剤を用いて、 Ca^{42} イオンを検出し、それは構造10に示す構造を有する：

【0114】

【化15】

構造 10:



【0115】

この具体例において、いずれのフラータイプの Ca^{42} 配位子を置換できるが、該ブロッキング基は、リンカーおよびBAPTA分子を含む。理論によって結合されることなくして、 Ca^{42} の不存在下にて、BAPTA基の1つのカルボキシ基を機能させて、配位原子を提供するらしい。しかしながら、 Ca^{42} の存在下にて、カルボキシ基は、 Ca^{42} とキレート化し、かくして配位基として用できなく、かくして迅速な水の交換を可能とする。好ましくは、該金属イオンは、 $\text{Gd}(\text{III})$ であり、該R基はすべて水素であって、W、X、YおよびZ基はカルボキシである。

【0116】

一の具体例において、BAPTA分子のカルボン酸基は、アセテート保護基で保護できる結果、次いで膜を通過する中性分子を生じる。一度、細胞の内側にて、細胞内エステラーゼがアセテート保護基を切断でき、 Ca^{2+} の検出を可能とする。Liら、Tetrahedron 53(35):12017-12040(1997)参照。

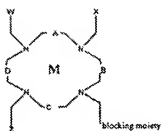
【0117】

好ましい具体例において、該組成物は、構造11に示した式を有する：

【0118】

【化16】

構造11



【0119】

この具体例において、金属イオン錯体に結合した単一ブロッキング基がある。該ブロッキング基は、いずれのS、T、UまたはV位でもあり得ると認められるべきである。同様に、単一のブロッキング基は、DTPAに結合できる。

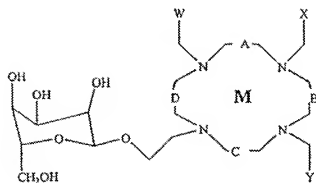
【0120】

好ましい具体例において、該磁気共鳴造影コントラスト剤は、構造12に示した式を有する：

【0121】

【化17】

構造 12



【0122】

この具体例において、該ブロッキング基は、ラクトースまたは β -ガラクトシダーゼによって認識されるように、 β (1, 4)結合を介して錯体と結合したリンカーおよび炭水化物を含む。理論によって拘束されることなくして、 β -ガラクトシダーゼの不存在にて、該錯体における低下した水の交換があるように、ガラクトース基は配位原子を提供するらしい。 β -ガラクトシダーゼに対する曝露に際して、該炭水化物ブロッキング基は切断し、配位原子を除き、迅速な水の交換を可能とする。好ましくは、該R基は水素であって、W、X、YおよびZ基はカルボキシである。

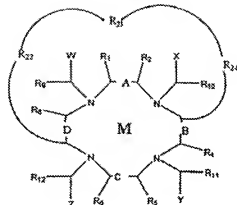
【0123】

もう一つの具体例において、該金属イオン錯体は構造13に示した式を有する：

【0124】

【化18】

構造 13:



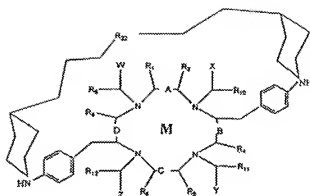
【0125】

この具体例において、 R_{22} 、 R_{23} および R_{24} は、ブロッキング基を含み、 R_{25} はまた機能して配位原子を寄与する配位部位バリアーである。 R_{22} および R_{24} 基は、 R_1 ないし R_{11} 位のいずれかにて結合できると理解されるべきである。好ましい R_{22} 基は、配位原子、ブロッキング基を供する上記にリストされた化合物および図2に示されたものを含むが、それらに限定されるものではない。また、 R_{22} および R_{24} は、前記定義のごときおよび以下の構造14に示すごときリンカーを含み得る。好ましい R_{22} および R_{24} 基は、炭水化物およびペプチドのごとき酵素に対する曝露に際して切断する酵素基質を含む。従って、該標的物質が β -ガラクトシダーゼのごときカルボヒドラーゼである場合に、該組成物は、構造14に示した式を有する：

【0126】

【化19】

構造 14



【0127】

この具体例において、該ブロッキング基は、2つのリンカー、2つの炭水化物および配位部位バリアーを含む。該炭水化物は、ラクトースまたはβ-ガラクトシダーゼによって認識されるように、β(1、4)結合のごときカルボヒドラーゼによって認識される結合を介して該錯体に結合する。該R_m基は、錯体における迅速な水の交換がないように、カルボヒドラーゼの不存在下にて配位原子を供する。β-ガラクトシダーゼのごときカルボヒドラーゼに対する曝露に際して、1または双方の炭水化物ブロッキング基は切断し、配位原子を取り去り、迅速な水の交換を可能とする。好ましくは、該R基は水素であって、W、X、YおよびZ基はカルボキシである。あるいは、該ブロッキング基は、プロテアーゼ標的物質についてペプチドを含むことができた。

【0128】

構造14における炭水化物の位置において、別法の具体例は、ペプチドを利用する。すなわち、2ないし5つのアミノ酸またはアナログを含むペプチドは、錯体の一端から他方へ伸ばすことができ、リンカー基は、用いても用いなくてもよい。同様に、核酸は、用いることができる。

【0129】

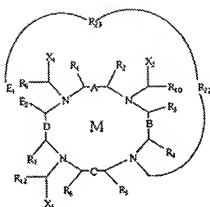
別法として、両端にて共有結合がない。また、上述のごとく、金属イオンの下方へ該ブロッキング基の有効な「束縛すること」は、該キレート化剤錯体に対する該ブロッキング基の親和性を増大させるために機能するであろう他の非-共有

相互作用において行われ得る。かくして、例えば、静電的相互作用は、構造15にDOTA誘導体につき一般的に後記されるごときに用いることができる：

【0130】

【化20】

構造15



【0131】

構造15において、該ブロッキング基/配位部位バリアーは、いずれの位置でも利用できるが、X₃位を占有する。E₁およびE₂および静電的基は、反対電荷を運ぶ。構造15において、E₂基は、いずれの位置も用いるが、R₈位に示される。

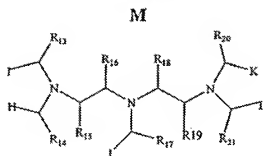
【0132】

さらなる具体例は、構造16に示した式を有する金属イオン錯体を利用する：

【0133】

【化21】

構造 16



【0134】

上記のごとく、H、I、J、KおよびL基の正確な組成物は、金属イオンの存在に依存すると理解されるべきである。すなわち、金属イオンの不存在下にて、H、I、J、KおよびLは-OH、-COOH、 $-(CH_2)_n$ OHまたは $(CH_2)_n$ COOHであり；しかしながら、金属が存在する場合、該基は、-OH、-COO⁻、 $-(CH_2)_n$ OHまたは $(CH_2)_n$ COO⁻である。

【0135】

この具体例において、R₁₃ ないし R₂₀ は、置換およびヘテロ誘導体を含めたアルキルまたはアリール、リン基またはブロッキング基であり、すべてが前記定義のごときである。好ましい具体例において、R₁₇ ないし R₂₁ は水素である。R₁₃、R₁₄、R₁₅、R₁₆、R₁₇、R₁₈、R₁₉、R₂₀、R₂₁、H、I、J、KまたはLのうち少なくとも一つは、前記定義のごときブロッキング基である。

【0136】

好ましい具体例において、本発明のMRIコントラスト剤は、シグナルが増大するように、1を超える金属イオンを含む。以下に概説されるごとく、これは、多数の方法でなされ得、それらのいくつかを図10に示す。

【0137】

好ましい具体例において、本発明のMRI剤は、各々、キレート化剤およびブロッキング基を持つ少なくとも2つの常磁性金属イオンを含み；すなわち、多重結合のMRI剤を作成する。好ましい具体例において、該キレート化剤は、直接的にまたはカップリング基またはポリマーのごときリンカーの使用を通してのい

ずれかで共に結合する。例えば、該キレート化剤に対する化学結合につき官能基として機能する置換基を用いて、他のキレート化剤に対する結合は達成できる。また、当業者によって認められるごとく、1を超えるMR 1 剤は、一般的に好ましくないが、該ブロッキング基(または配位部位バリアー等)を介してなし得る。

【0138】

好ましい具体例において、本発明の該キレート化剤は、化学結合について官能基として機能する1以上の置換基を含む。適当な官能基は、アミン(好ましくは第一アミン)、カルボキシ基を含み、それらに限定されるものではなく、(SPDP、アルキルおよびアリールハライド、マレイミド、 α -ハロアセチルおよびビリジルジスルフィドを含めた)チオールは結合を可能とする官能基として有用である。

【0139】

一の具体例において、該キレート化剤は、各キレート化剤の少なくとも一つの官能基を用いて直接的に一緒に結合する。これは、当該技術分野においてよく知られるいずれの数の、ホモ二官能基およびヘテロ二官能基リンカーを含めた安定な二官能基を用いても達成できる(Pierce CatalogおよびHandbook, 1994, T155-T200頁((ここに出典明示して本明細書の一部とみなす)参照)。この結果、例えば、官能基として第一アミンを含み、第二には、官能基としてカルボキシ基を含み、カルボジイミドを薬剤として用いて求核性のアミンによって結合するためにカルボキシを活性化する場合に、一つのキレート化剤は、直接的に結合する(Torchilinら、Critical Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems, 7(4):275-308(1991)参照)。別法として、当業者によって認められるごとく、いくつかの二官能性リンカーの使用の結果、短いカップリング基が構造に存在する。「カップリング基」は、2個以上の原子団を共有結合できる。この具体例において、カップリング基の一端または一部は、第一MR 1 コントラスト剤に結合し、他は第二MR 1 剤に結合する。カップリング基の官能基は、一般的に(ヘテロアルキルおよびアリールおよび置換誘導体を含めた)アルキルまたはアリール基のごときさらなる原子に結合して、カップリング基を形成する。また、オキソリンカーは好ましい。当業者によって認められるごとく、広範囲の力

カップリング基は可能であり、分子を合成する能力および官能基の反応性によって一般的に限定されるのみである。一般的に、カップリング基は、合成的要求のために少なくとも一つの炭素原子を含み；しかしながら、いくつかの具体例において、該カップリング基は、まさに官能基を含み得る。

【0140】

好ましい具体例において、該カップリング基は、スペーサーとしてさらなる原子を含む。当業者によって認められるごとく、非常に様々な基を用いることができる。例えば、カップリング基は、1以上の官能基で置換したアルキルまたはアリール基を含み得る。かくして、一の具体例において、後記のごときポリマー具体例と同様に、多数のMRIコントラスト剤の結合について複数の官能基を含むカップリング基を用いることができる。例えば、多数の官能基を含む分岐したアルキル基は、いくつかの具体例において望ましい。

【0141】

さらなる具体例において、該リンカーはポリマーである。この具体例において、本発明の少なくとも一つのMRIコントラスト剤を含むポリマーを用いる。当業者によって認められるごとく、これらのMRIコントラスト剤は、モノマー（すなわち、一つの金属イオン、一つのキレート化剤、一つのプロッキング基）または一般的に後記されるごとく二重（すなわち、2つの金属イオン、2つのキレート化剤、1つのプロッキング基）であり得る。好ましい具体例は、ポリマー当り複数のMRI剤を利用する。ポリマー当りのMRI剤数は単位長さ当りのMRI剤の密度およびポリマーの長さに依存するであろう。

【0142】

ポリマーの特性は変更するが、重要なことはポリマーが本発明のMRIコントラスト剤の結合のための官能基を含むかまたは含むために修飾できることである。適当なポリマーは、官能化されたデキストラン、スチレンポリマー、ポリエチレンおよび誘導体、限定されるものではないが、ヘパリン、ポリガラクトロン酸、ムチン、核酸のポリマーを含めたポリアニオンおよび修飾リボス-リン酸骨格で修飾されたものを含めたそれらのアナログ、ポリペプチド、ポリグルタメートおよびポリアスパルテート、ならびに合成ポリマーのカルボン酸、リン酸およ